Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie
der Universität Breslau (Direktor: Prof. Dr. Riesser)

Versuche zu einer biologischen Wertbestimmung der Expektorantien

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der Zahnheilkunde

bei der Hohen medizinischen Fakultät
der Universität Breslau

vorgelegt von

Hermann Müller,
Zahnarzt.

Breslau 1932.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Breslau

I. Berichterstatter: Prof. Dr. Hesse.
II. " : Prof. Dr. Riesser.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus
Medizinische Klinik 1932, Nr. 5
Wochenschrift für praktische Ärzte

Während man am Krankenbett die hustenfördernde und sekretionsanregende Wirkung der Expektorantien täglich beobachten kann, stellen sich einer experimentellen Bearbeitung dieser Vorgänge sehr große Schwierigkeiten entgegen, vor allem deswegen, weil es noch nicht gelungen ist, ein Tier durch ein Hustenmittel zu einer Expektoration zu zwingen.

Wir pflegen die Wirkung dieser Arzneigruppe am Menschen auf etwa folgende Weise zu erklären. Durch Ammoniumsalze tritt nach H. H. Meyer (1) eine Verflüssigung des zähen Schleimes ein, der sich in den entzündeten Bronchien befindet. Andere Mittel, zum Beispiel die Saponine regen die Sekretion und Flimmerbewegung der Bronchialschleimhaut an oder setzen auf nervösem Wege den Hustenmechanismus in Aktion. Einige experimentelle Arbeiten stützen diese Vorstellung. So haben Henderson und Taylor (2) gefunden, daß Katzen auf ihrer Bronchialschleimhaut nach Zufuhr von Jodsalzen eine vermehrte Sekretbildung zeigen. Kochmann (3) fand die Flimmerbewegung der Rachenschleimhaut des Frosches durch Expektorantien beschleunigt. Mendenhall und Cate (4) sahen, daß die durch Aldehyde gelähmten Zilien von Austern durch kleine Mengen der gebräuchlichen Expektorantien zu neuer Tätigkeit angeregt werden. In jüngster Zeit hat Gordonoff (5) Kaninchen jodierte Öle intratracheal injiziert, röntgenologisch die Aufhellung und Fortbewegung des Kontrastschattens unter dem Einfluß von Hustenmitteln verfolgt und daraus gewisse Schlüsse auf den Wirkungsmechanismus der einzelnen Stoffe gezogen. Danach wirken Jodkalium und die Saponine sekretfördernd, während Ammoniumchlorid mehr die motorischen Funktionen anregt. Über die Mechanik der Expektoration berichtet Rohrer[1]).

Die konstante Zusammensetzung der Expektorantien wird durch die chemische Analyse gewährleistet. Eine biologische Wertbestimmung fehlt. Wir haben deshalb eine Methode zu ent-

---

[1]) Schweiz. med. Wschr. 1921, Nr. 33, S. 765.

wickeln versucht, mit der man am Tier den Vorgang der Expektoration darstellen kann. Verbraucht wurden in den Versuchen etwa 100 Kaninchen, 70 Hunde und einige Katzen, Ratten, Meerschweinchen und Mäuse.

Zuerst wurde in Analogie zu den Arbeiten von Henderson und Taylor Kaninchen und Katzen eine Glaskanüle in die Trachea eingebunden. Die Tiere erhielten mit der Magensonde Extractum Primulae fluidum (4 ccm/kg), Jodkalium (0,5 g/kg), Kalium sulfoguajacolicum (2,0 g/kg), sowie das Ammoniumchlorid und Saponine enthaltende Präparat Intin (20 ccm/kg). Darauf wurden die Tiere senkrecht mit dem Kopf nach unten eine Stunde lang aufgehängt und die aus der Trachealkanüle abfließende Flüssigkeit in einem Meßgefäß aufgefangen. Wir sahen mit und ohne Hustenmittel keine Sekretbildung. Es kondensierte sich lediglich in dem Auffanggefäß etwas klare Flüssigkeit, 0,1—0,2 ccm, aus dem Wasserdampf der Exspirationsluft. Das gleiche beobachteten wir an Kaninchen, bei denen wir durch intratracheale Darreichung einer Senföl-Olivenölmischung eine bronchopneumonische Entzündung erzeugt hatten. Wir müssen somit feststellen: Die Hustenmittel — Saponin, Ammonium- und Jodsalze sowie guajakolsulfosaures Kalium — wirken an der normalen und kranken Kaninchen- bzw. Katzenlunge nicht derart sekretionsfördernd, daß man nennenswerte Sekretmengen aus dem Bronchialbaum gewinnen kann.

In einer zweiten Reihe von Versuchen haben wir das Verfahren von Gordonoff benützt. Kaninchen erhalten 0,5 ccm 40proz. Jodipin intratracheal oder, wie wir vorschlagen, 0,5 ccm eines Bariumsulfatbreies, der aus 35 g Bariumsulfat (für Röntgenzwecke Merck) und 50 ccm Wasser jedesmal frisch sorgfältig bereitet wird. Da die Möglichkeit besteht, daß die kranke Lunge anders reagiert als die gesunde, verwendeten wir außerdem noch einen Brei, dem auf 35 g Bariumsulfat 6 Tropfen Crotonöl zugesetzt waren. Um diesen Brei entwickelt sich in der Lunge ein großer bronchopneumonischer Herd, wobei darauf hinzuweisen ist, daß die verschiedenen Crotonölpräparate in ihrer entzündungserregenden Wirkung gewisse Unterschiede besitzen.

Die Expektorantien gaben wir entweder vier Tage lang täglich einmal, oder mehrmals am Tage. Die Kaninchen wurden am Ende des Versuches nach vorheriger Unterbindung der Trachea durch Karotisschnitt entblutet. Das in der Lunge zurückgebliebene Bariumsulfat bzw. Jod wurde analytisch bestimmt.

In Tabelle 1, 2 und 3 sind einige Versuche zusammengefaßt, aus denen hervorgeht, daß die Lungen der Kontrollkaninchen ungefähr ebenso viel Füllmaterial enthalten, wie die mit den Expektorantien behandelten Tiere. Es muß ferner ausdrücklich betont werden, daß während des Versuches kein einziges Kaninchen Material ausgehustet hat. Da an der hustenfördernden Wirkung der geprüften Präparate am Menschen nicht zu zweifeln ist, am Kaninchen aber diese Präparate keine Expektorationen herbeiführen, scheint uns das Kaninchen als Testobjekt zur Auswertung der Hustenmittel nicht geeignet zu sein.

Im Gegensatz dazu ist nach unseren Erfahrungen der Hund für solche Versuche durchaus brauchbar, zumal die Schleimhäute

Tabelle 1.

Versuche am Kaninchen. In den Bronchialbaum wurden eingefüllt pro Tier 0,5 ccm 40proz. Jodipin. Präparatzufuhr 3 Tage lang, anschließend Entblutung des Tieres durch Karotisschnitt nach vorheriger Unterbindung der Trachea.

Gewicht in kg	Präparatzufuhr 3 Tage lang, täglich pro kg oral	Jodgehalt der Lungen in g	Bemerkungen
1,60	—	0,20	Die Tiere expektorierten während der Versuchszeit nicht
1,42	—	0,16	
2,10	—	0,17	
1,90	10 ccm Intin	0,23	
2,00	10 ccm Intin	0,19	

Tabelle 2.

Versuche am Kaninchen. In den Bronchialbaum wurden eingefüllt pro Tier 0,5 ccm Bariumsulfatbrei, der aus 35 g Bariumsulfat für Röntgenzwecke (Merck) und 50 ccm Wasser hergestellt war. Die Präparate wurden viermal an einem Tage in Abständen von je zwei Stunden oral gegeben. Die Entblutung der Tiere erfolgte durch Karotisschnitt nach vorheriger Unterbindung der Trachea 24 Stunden nach der Lungenfüllung.

Gewicht in kg	Präparatzufuhr 1 Tag lang, 4mal in Abständen v. 2 Std. pro kg oral	Bariumsulfatgehalt der Lungen in g	Bemerkungen
2,40	10 ccm Wasser	0,27	Die Tiere expektorierten während der Versuchszeit nicht
2,40	10 ccm Wasser	0,33	
2,40	10 ccm Wasser	0,19	
2,32	10 ccm Intin	0,22	
2,32	10 ccm Intin	0,37	

Tabelle 3.

Versuche am Kaninchen. In den Bronchialbaum wurden eingefüllt pro Tier 0,5 ccm Bariumsulfatbrei, hergestellt aus 35 g Bariumsulfat für Röntgenzwecke (Merk) und 50 ccm Wasser unter Zusatz von 6 Tropfen Oleum crotonis. Präparatzufuhr 4 Tage lang, täglich einmal. Entblutung der Tiere durch Karotisschnitt nach vorheriger Unterbindung der Trachea 4 Tage nach der Lungenfüllung.

Gewicht in kg	Präparatzufuhr 4 Tage lang, tägl. pro kg oral	Bariumsulfatgehalt der Lungen in g	Bemerkungen
1,68	20 ccm Wasser	0,27	Die Tiere expektorierten während der Versuchszeit nicht
1,82	do.	0,17	
1,92	do.	0,16	
1,66	0,3 g NH_4Cl	0,24	
1,62	do.	0,21	
2,36	do.	0,18	
1,38	0,5 g JNa	0,26	
1,70	do.	0,27	
1,44	do.	0,26	
1,76	20 ccm Intin	0,26	

seines Bronchialbaumes für Reize sehr empfindlich sind. Führt man z. B. einem Hund durch eine Tracheotomiewunde einen Gummischlauch tief in den Bronchialbaum ein, so fängt das Tier sofort an, kräftig zu husten und läßt erst mit den Hustenstößen nach, wenn der Reiz unterbrochen oder die Schleimhaut anästhesiert wird. Katzen und Kaninchen zeigen diese Wirkung nicht. Meerschweinchen scheinen etwas empfindlich zu sein.

Wir füllen die Lungen der Hunde im allgemeinen mit 0,25 ccm Bariumsulfatbrei oben angegebener Dichte pro Kilogramm Körpergewicht. Dazu müssen die Tiere narkotisiert werden, weil sonst die Füllung wegen der fortwährenden Hustenstöße unmöglich ist. Wie im einzelnen die Narkose zu leiten ist, damit auch nach dem Aufwachen aus der Betäubung die Hunde nicht spontan expektorieren, darauf soll in folgendem näher eingegangen werden. Im übrigen kann man den Versuch zur Auswertung eines Expektorans sowohl an der gesunden wie an der kranken Lunge ausführen.

Methode I (Versuch an der normalen Lunge).

Die Hunde, die am Vortag kein Futter bekommen haben, erhalten einige Minuten vor dem Eingriff 3 mg/kg Kodeinphosphat subkutan. Dann werden sie auf dem Operationstisch festgeschnallt und mit Äther narkotisiert. Die Trachea wird freigelegt und durch einen etwa 1 cm breiten Schnitt eröffnet. In die Trachea wird ein etwa 30 cm langer Gummischlauch mit einem Lumen von 2 mm so tief eingeführt, bis er im Bronchialbaum auf Widerstand stößt, und mit einer Rekordspritze eine dem Körpergewicht der Tiere entsprechende Menge Bariumsulfatbrei injiziert. Wir geben 0,25 ccm/kg eines Breies, der aus 35 g Bariumsulfat und 50 ccm Wasser sorgfältig hergestellt wird. Trachea und äußere Wunde werden durch Naht versorgt und die Hunde in Glaskäfige geschafft. Etwa ½ Stunde nach dem operativen Eingriff erwachen die Tiere aus der Narkose und sind bald völlig munter.

Man kann solchen Hunden 6—7 Stunden nach der Füllung die Expektorantien zuführen. 24 Stunden nach dem Eingriff muß der Husteneffekt erreicht sein, denn eine Ausdehnung des Versuches über diese Zeit hinaus ist aus verschiedenen Gründen nicht ratsam.

Aus der normalen Lunge löst sich nämlich das eingefüllte Material kontinuierlich heraus, ohne daß es dabei nach außen expektoriert wird. Offenbar verschlucken die Tiere die geringen sich ablösenden Mengen. Jedenfalls findet man 24 Stunden nach der Füllung etwa ⅔—½ des eingegebenen Bariumsulfates in der Lunge. Nach 72 Stunden ist nur noch ein Zehntel vorhanden.

Im allgemeinen geben wir den Tieren nach 6 und ein zweites Mal nach 9 Stunden das Expektorans mit der Magensonde. Die Expektoration tritt, auch wenn man z. B. Saponine intravenös injiziert, meist 8—10 Stunden nach der Eingabe des Mittels ein. Wenn wir die Hunde am Morgen operierten und nachmittags mit den Hustenmitteln fütterten, erfolgte die Expektoration gewöhnlich in der Nacht. Recht eindrucksvoll ist das Bild der aus-

gehusteten weißen Massen an den Wänden und am Boden des Käfigs.

24 Stunden nach der Füllung wird den Tieren in Morphinnarkose (0,04 g/kg intravenös) die Trachea unterbunden, anschließend Entblutung durch Karotisschnitt. Die Lungen werden herausgenommen, die Lungenflügel am Hilus abgeschnitten und insgesamt nach Kjeldahl verascht. Beim Verdünnen der Veraschungsflüssigkeit mit Wasser fällt das Bariumsulfat aus, wird abfiltriert und in üblicher Weise gravimetrisch bestimmt.

Methode II (Versuch an der kranken Lunge).

Will man die Wirkung der Hustenmittel an der kranken Lunge studieren, so gibt man dem Bariumbrei Crotonöl hinzu, und zwar auf 35 g Bariumsulfat und 50 ccm Wasser 3 Tropfen Oleum crotonis. Die Tiere werden mit Morphin narkotisiert (0,02 g/kg subkutan), tracheotomiert und erhalten die übliche Lungenfül-

Tabelle 4.

Versuche an Hunden. Narkose: 3 mg/kg Kodeinphosphat subkutan und Äther. In den Bronchialbaum wurde eingefüllt 0,25 ccm Bariumsulfatbrei/kg, hergestellt aus 35 g Bariumsulfat für Röntgenzwecke (Merck) und 50 ccm Wasser. Orale Zufuhr der Präparate am Tage der Füllung um 15.00 und 18.00 Uhr. Entblutung durch Karotisschnitt nach vorheriger Unterbindung der Trachea in Morphinnarkose (0,04 g/kg i.v.) 24 Stunden nach der Füllung.

Gewicht in kg	Präparatzufuhr 2 mal in ccm/kg oral	Erfolg	Bariumsulfatgehalt der Lunge in % der eingefüllten Menge
9,5	—	Die Tiere expektorierten während der Versuchszeit nicht	—*)
12,7	—		75
6,5	10 ccm Wasser		—*)
16,0	10 ccm Wasser		—*)
12,8	0,5 g NH_4Cl	Die Tiere expektorierten nicht	42
12,2	0,3 g NH_4Cl		51
16,0	2 ccm Extr. Primul. fluid.	Die Tiere expektorierten kräftig	41
16,2	2 ccm Extr. Primul. fluid.		30
13,0	2 ccm Extr. Primul. fluid.		61
11,7	1 mg Quillaja-Saponin i.v.	Expektoration	—*)
8,0	10 ccm Intin	Die Tiere expektorierten kräftig	—*)
8,8	10 ccm Intin		—*)
12,5	10 ccm Intin		8
8,8	15 ccm Keptan	Expektoration	—*)
10,9	15 ccm Keptan	Keine Expektoration	60*)
7,2	15 ccm Keptan	Expektoration	61
9,9	10 ccm Beatin	Keine Expektoration	—*)
18,7	10 ccm Beatin	Expektoration	—*)
3,1	10 ccm Beatin	Expektoration	57

*) Analysen fehlen.

Tabelle 5.

Versuche an Hunden. Narkose: 0,02 g Morphin-HCl/kg subkutan. In den Bronchialbaum wurde eingefüllt 0,25 ccm Bariumsulfatbrei/kg, hergestellt aus 35 g Bariumsulfat für Röntgenzwecke (Merck) und 50 ccm Wasser unter Zusatz von 3 Tropfen Oleum crotonis. Orale Zufuhr des Expektorans 48 Stunden nach der Lungenfüllung um 8.00 und 12.00 Uhr. Entblutung der Tiere in Morphinnarkose (0,04 g/kg i.v.) durch Karotisschnitt nach vorheriger Unterbindung der Trachea 72 Stunden nach der Füllung.

Gewicht in kg	Präparatzufuhr 48 Std. n. d. Füllung 2mal ccm/kg oral	Erfolg	Barium-sulfatgehalt der Lungen in g
5,8	—		0,37
5,0	10 ccm Wasser	Die Tiere expektorierten nicht	0,59
5,2	10 ccm Wasser		0,87
6,0	10 ccm Beatin		θ
3,7	10 ccm Beatin	Die Tiere expektorierten kräftig	0,07
4,0	10 ccm Intin		θ
15,4	10 ccm Intin		—

lung. 48 Stunden nach der Füllung bekommen sie die Expektorantien. Weitere 24 Stunden später soll der Versuch beendet sein. Die durch das Crotonöl entstehende Bronchopneumonie drosselt durch die Verlegung der kleinen und mittleren Bronchien fast vollkommen das Herauslösen des Bariumsulfates, so daß man am Ende des Versuches bei den Kontrollen manchmal noch die gesamte eingefüllte Bariumsulfatmenge vorfinden kann. Diese Methode hat aber nicht unerhebliche Nachteile. So überlebt nur ein Teil der Hunde die Eingriffe. Von 15 in der beschriebenen Weise behandelten Hunden starben im Verlauf von 24—48 Stunden 6, während 9 überlebten. Bei der Sektion zeigten sich die Lungen z. T. in ihrer ganzen Ausdehnung blutig imbibiert.

Wir haben unsere Erfahrungen in Tabelle 4 und 5 zusammengefaßt. Die Hunde expektorierten nach Zufuhr folgender Präparate: Quillaja-Saponin, Extractum Primulae fluidum (Saponin enthaltend), Intin (Ammoniumchlorid und Saponin enthaltend), Keptan (Saponin und guajakolsaures Kalium enthaltend) und Beatin (Kreosot enthaltend). Ammoniumchlorid war in den verwendeten Mengen unwirksam. Zur Bewertung eines Präparates genügt nach unserer Meinung vorerst die Feststellung, daß unter der Einwirkung des Mittels die Hunde ausgehustet haben (kurzfristiger Versuch an der normalen Lunge — Äther-Kodeinmethode) und ferner die Bestimmung der minimal wirksamen Dosis. Ob sich aus den Zahlen der in den Lungen zurückgebliebenen Bariumsulfatmengen exakte Schlüsse auf die Stärke des Expektorans werden ziehen lassen, muß noch an einem größeren Tiermaterial festgestellt werden.

Zusammenfassung: Als Test für Versuche über die hustenfördernde Wirkung der Expektorantien eignet sich der Hund, während das

Kaninchen nicht so brauchbar ist. Füllt man Hunden in den Bronchialbaum Bariumsulfatbrei, so husten die Tiere, wenn sie wirksame Expektorantien erhalten haben, einen Teil des eingefüllten Materials aus. Wirksam waren Quillaja-Saponin, Extractum Primulae fluidum, Intin, Keptan und Beatin, Stoffe, welche Salze, Saponin, Ammoniumchlorid, guajakolsulfosaures Kalium und Kreosot enthalten. Diese Versuche können unseres Erachtens als Grundlage für eine biologische Wertbestimmung der Expektorantien dienen.

Literatur: 1. u. 2. Kl. W. 1931, S. 928, zit. nach Gordonoff. — 3. Arch. f. exper. Path. **150**, H. 23. — 4. J. of Pharmacol. **31**, Nr. 3, S. 222. — 5. Kl. W. 1931, S. 928.

Lebenslauf.

Ich wurde am 4. Mai 1908 als Sohn des Kaufmanns Richard Müller in Neuruppin geboren. Ostern 1915 trat ich in die Vorschule des Friedrich-Wilhelm-Gymnasiums zu Neuruppin ein und besuchte seit Ostern 1918 die genannte Anstalt. Am 3. März 1927 bestand ich die Reifeprüfung. Vom S.-S. 1927 bis S.-S. 1929 studierte ich in Jena, wo ich am 27. April 1929 das zahnärztliche Vorexamen bestand. W.-S. 1929/30 war ich in München immatrikuliert. S.-S. 1930 und W.-S. 1930/31 studierte ich in Breslau. Hier bestand ich am 10. Juni 1931 das zahnärztliche Staatsexamen. Meine Approbation datiert vom 22. Juni 1931. Ich bin preußischer Staatsangehöriger.

Druck von L. Schumacher in Berlin N 4.